



**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**

TESIS

**EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE *Giardia* sp. EN
HECES DE CANINOS EN UNA CLÍNICA VETERINARIA EN VILLA EL SALVADOR**

**PARA OBTENER EL
TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO**

**MILAGROS YANNINA RAMOS MOLINA
BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA**

**LIMA-PERÚ
2018**

DEDICATORIA

Dedico esta investigación a Dios por brindarme muchas fuerzas y salud en cada paso que doy en mi vida profesional.

A mis padres y hermana, quienes a lo largo de mi vida velaron por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento.

A mi abuelita, quien espiritualmente siempre está compartiendo cada reto que me propongo en la vida

A mis familiares, por apoyar directa e indirectamente durante mi formación profesional y durante el proceso de mi tesis.

A mi compañeros y amigos; quienes estuvieron durante el proceso de la investigación dándome sus palabras de aliento para poder culminar con éxito.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme salud para lograr mis objetivos y por guiar cada pasó.

A mi directora de tesis, por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, experiencia, paciencia y motivación ha logrado en mí que pueda terminar la investigación con éxito.

Al Dr. Hugo Samame Beltrán por apoyarme en la parte estadística de la investigación.

A los maestros de la UAP que enriquecieron mi formación durante mi carrera universitaria.

A los profesionales de la carrera que contribuyeron durante la recolección de muestras de mi investigación e hicieron posible la realización.

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo evaluar dos métodos para el diagnóstico de *Giardia* sp en heces de caninos, utilizando el test rápido para *Giardia* y el método de flotación con sulfato de zinc al 33,3%. El estudio se realizó en la veterinaria "Oasis", durante los meses de febrero a mayo del 2017. Se consideró como población a cachorros de 0 días a 12 meses de edad con signos sospechosos a giardiosis, utilizando el diseño de investigación del teorema central, se recolecto durante los cuatro meses unas 40 muestras de heces, cada muestra se evaluó con ambos procedimientos. En el diseño estadístico se utilizó la tabla de contingencia donde se halló la sensibilidad y especificidad, dando como resultado un 97% y 94%; mientras la especificidad fue de 80 % y 66,6% para el método de flotación con sulfato de zinc al 33,3% y el test rápido para *Giardia* respectivamente. Mediante la prueba de Mc Nemar se obtuvo 1,3 como resultado final, y el coeficiente kappa de Cohen dio el valor de 0,68. Se concluyó que ambos métodos, son reemplazables entre si y no demuestran diferencias significativas, pero la prueba de flotación con sulfato de zinc al 33,3% presenta un menor costo de hasta menos de la mitad a diferencia del test rápido para *Giardia*. Con respecto a benéficos de las pruebas, el test rápido para *Giardia* no necesita de experiencia para su uso, reduce significativamente la exposición a las heces contaminadas, se obtiene un diagnóstico rápido y disminuye notablemente el uso de materiales de laboratorio.

Palabras claves: Protozoario, método, cachorros, diarrea.

ABSTRACT

The objective of the research was to evaluate two methods for the diagnosis of *Giardia* sp in feces of canines, using the rapid test for *Giardia* and the method of flotation with zinc sulphate to 33.3%. The study was conducted at the veterinary "Oasis", during the months of February to May 2017. Puppies from 0 days to 12 months of age with suspicious signs of giardiasis were considered as population, using the research design of the central theorem, four stool samples were collected during the four months, each sample was evaluated with both procedures. In the statistical design, the contingency table was used, where sensitivity and specificity were found, resulting in 97% and 94%; while the specificity was 80% and 66.6% for the flotation method with zinc sulphate at 33.3% and the rapid test for *Giardia* respectively. Using Mc Nemar's test, 1.3 was obtained as the final result, and Cohen's kappa coefficient gave the value of 0.68. It was concluded that both methods are replaceable and do not show significant differences, but the 33.3% zinc sulfate flotation test presents a lower cost of up to less than half, unlike the rapid test for *Giardia*. With regard to the benefits of the tests, the rapid test for *Giardia* does not need experience for its use, it significantly reduces the exposure to contaminated feces, a rapid diagnosis is obtained and the use of laboratory materials is significantly reduced.

Keywords: Protozoan, Method, Puppies, diarrhea.

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II.MARCO TEÓRICO.....	3
2.1 Métodos de diagnóstico para <i>Giardia</i> sp.....	3
2.1.1 Antecedentes	3
2.2 <i>Giardia</i> sp.....	5
2.2.1 Etiología	5
2.2.2 Clasificación taxonómica.....	5
2.2.3 Características	6
2.2.4 Ciclo de vida	8
2.2.5 Patogenia.....	8
2.2.5.1 Factores que influyen en la patogenia.....	9
2.2.5.1.1 Dependientes del parásito.....	9
2.2.5.1.2 Dependientes del hospedador	10
2.2.5.1.3 Dependientes del ambiente.....	10
2.2.6 Síntomas de la Giardiosis	10
2.2.7 Diagnóstico	11
2.2.8 Prevención.....	12
2.2.9 Métodos de diagnóstico.....	13
2.2.9.1 Flotación en sulfato de zinc o Faust.....	13
2.2.9.2 Elisa fecal (test rápido para <i>Giardia</i>).....	13
2.2.9.3 Inmunofluorescencia	14
2.2.9.4 PCR (Reacción en Cadena de Polimerasa).....	14
2.2.9.5 Aspirados duodenales	15
III.MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1 Espacio y tiempo.....	16
3.2 Población y muestra.....	16

3.3 Diseño de la investigación	16
3.4. Procedimiento.....	17
a. Selección de los animales	17
b. Recolección de muestras	17
c. Análisis de muestras.....	17
c.1 Método de flotación con sulfato de zinc al 33,3%	18
c.2 Método moderno con test rápido vetScan para <i>Giardia</i>	18
3.5 Diseño estadístico.....	18
IV.RESULTADOS.....	19
V.DISCUSIÓN.....	21
VI.CONCLUSIONES	24
VII.RECOMENDACIONES	25
VIII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
ANEXOS	30
ANEXO 1.....	31
ANEXO 2.....	32
ANEXO 3.....	33
ANEXO 4.....	34
ANEXO 5.....	35
ANEXO 6.....	36
ANEXO 7.....	37
ANEXO 8.....	38
ANEXO 9.....	39

I. INTRODUCCIÓN

La giardiosis es una enfermedad causada por el protozoo flagelado *Giardia*, siendo un parásito que se localiza en el intestino delgado proximal que afecta tanto a humanos y a una variedad de animales domésticos y silvestres. Asimismo, la enfermedad causa el síndrome de mala absorción, produciendo cuadros agudos y subagudos con la presentación de esteatorrea en cachorros hasta producir la muerte y en adultos cuadros crónicos.

En los estudios realizados en cachorros se ha presentado en un 20-35% sin signos clínicos, pero puede tener una morbilidad de 80% y una mortalidad de 2% al 3% asociado a los factores de riesgo como la edad, hacinamiento, animales portadores, nivel socioeconómico bajo, falta de desparasitación y malas medidas higiénicas.

En el ámbito humano y veterinario se han desarrollado técnicas de diagnóstico que faciliten su detección como son: el test rápido para *Giardia*, flotación con sulfato de zinc al 33,3% o Faust, PCR, inmunofluorescencia, biopsias duodenales, aspirados duodenales, frotis fecales. Estas técnicas existentes variando en precios, tiempo de diagnóstico y procedimientos que son utilizados dependiendo de la orden del médico tratante.

En el ámbito veterinario se utiliza la técnica de flotación o sedimentación de forma cotidiana para el diagnóstico de *Giardia*. Pero presenta limitantes por requerir de personal capacitado y el tiempo de procesamiento. Otra limitante está en la dificultad en llegar al diagnóstico en base a los signos gastrointestinales, dificultando el tratamiento.

Por lo mencionado, la investigación tuvo como objetivo evaluar el método de flotación sulfato de zinc al 33,3% y el test rápido para *Giardia*. Con los resultados obtenidos el

médico veterinario y la mascota se verán beneficiados al diagnosticar rápidamente la enfermedad, para posteriormente realizar un control para poder limitar la zoonosis sobre todo en los estratos socioeconómicamente bajos.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Métodos de diagnóstico para *Giardia* sp

2.1.1 Antecedentes

En la investigación realizada por Binda, Moreina y Álvarez, en el año 2000, compararon la técnica de flotación con sulfato de zinc y la técnica con solución sobresaturada de cloruro de sodio para detectar *Giardia*, en una población de 63 caninos de diferentes sexos, edades y razas. Obteniéndose 6 casos positivos (9,52%) con la primera técnica y 3 animales positivos (4,76%) con la segunda. La infestación ocurrió tanto en machos como en hembras, pero la mayoría de casos positivos se dan en perros cachorros, la única excepción se registró en un macho de 6 años. En la investigación, se evidencio mayor cantidad por campo de quistes con el método de flotación con sulfato de zinc (1).

En el año 2010 se recolecto 20 muestras fecales de perros adultos clínicamente sanos, se compararon cuatro pruebas diagnósticas para *Giardia* como: la prueba techlab ELISA, IDEXX *Giardia* SNAP, flotación con sulfato de zinc simple y agrupada obteniéndose una sensibilidad de 51%, 77%, 49% y 78% respectivamente y con una especificidad de 96%, 92%, 94% y 65% (2).

En el año 2011 se evaluaron 98 caninos con cuatro métodos de diagnóstico (método directo, método de flotación con solución azucarada, método de flotación con sulfato de zinc y kit para *Giardia*). El método que detecto más porcentaje de positividad fue el Kit para *Giardia* con un 22,45% y en cuarto lugar el método de flotación con sulfato de zinc con un 8,16%. Tomándose como factores incluyentes: raza, sexo, estado fisiológico y estrato socio-económico (3).

Según el laboratorio ABAXIS, el VetsScan *Giardia* Antigen Test posee una sensibilidad de 98,1% y una especificidad de 99,3%. Los estudios realizados en el 2015, comparan el método de Elisa directo con una prueba de western blot, utilizando un total de 243 muestras (4).

La mayor prevalencia se presenta en animales menores de un año que tienen acceso a aguas estancadas contaminadas o contacto con las deposiciones de animales enfermos o portadores asintomáticos. Sin embargo, puede afectar a animales adultos que tengan acceso a estas fuentes de infección. Es una enfermedad que puede presentarse en mayor escala en colectividades como perreras, criaderos, etc., donde la morbilidad puede superar el 80% de los individuos y con una mortalidad que no suele superar del 2% al 3% (5).

En el Perú se registró una prevalencia para *Giardia sp.* en canes de seis distritos del cono sur, comparando el método de sedimentación espontánea y el examen directo. Dando como resultado una prevalencia de 15,7% \pm 5,0 mediante la técnica de sedimentación espontánea y 8,8 \pm 3,9% con el examen directo. Obteniéndose mayores casos de cachorros positivos en los distritos de villa el salvador y chorrillos (6).

La investigación realizada por López y colaboradores en el año 2006, indica la recolección de materia fecal de 972 canes en Santiago de Chile que acudieron a 2 clínicas veterinarias entre los años 1996 y 2003. Los resultados que se obtuvo en protozoarios fue un 64,8% y en helmintos en un 24%, y se reportó *Giardia intestinalis* en un 22% de los casos (7).

En el 2001, se analizaron un total de 1035 perros domésticos. Las muestras fecales de 151 (14,6%) de los perros fueron positivas a *Giardia*. El protozoario se detectó con mayor frecuencia en heces blandas (26,4%) que en heces diarreicas (13%) o normales (10%). Las formas de los organismos obtenidos en esta investigación de los 151 perros fueron quistes (77,5%), trofozoitos (9,9%). Los perros mantenidos en el interior tenían una prevalencia más elevada (18,5%) de *Giardia* que los perros que salían con frecuencia a

la calle (4,8%). La infección de *Giardia* también fue más prevalente en cachorros de 1-6 meses (21,7%) en comparación con otros grupos (8).

Según Araujo en el año 2004, recolecto 385 muestras fecales de caninos, de diferentes edades, ambos sexos y diferentes distritos. Cuantificando la asociación entre la presencia del parásito y las características físicas de las heces. Obteniendo como resultado un elevado nivel de positividad (42%) en muestras de heces diarreicas y pastosas, en tanto que solo 2,2% en heces normales. Determinando una relación estadísticamente significativa entre el hallazgo de quistes de *Giardia* sp y las características físicas de las heces evidenciadas (9).

2.2 *Giardia* sp

2.2.1 Etiología

Giardia fue observado por primera vez por el holandés Antoine van Leeuwenhoek en 1681 en sus propias materias fecales diarreicas, sin embargo, su descubrimiento fue atribuido al checo Vilem Lambl en 1859, quien describió al organismo en detalle y el nombre *lamblia* fue dado a las especies por Blanchard en 1888 (10).

2.2.2 Clasificación taxonómica

En la clasificación de los protozoos de Levine (1980), el género *Giardia* se incluye en el phylum Sarcomas figophora, subphylum mastigophora, clase Zoomastigophorea, orden Díplomonadída, familia Hexamitidae que incluye único género *Giardia* (11).

De acuerdo con la nueva sistemática sobre la base de los datos genéticos, estructurales y bioquímicos *Giardia* pertenece a Filo metamonada, Subphylum Trichozoa, Superclase Eopharyngia, Clase Trepomonadea, Subclase Diplozoa, Orden Giardiida y Familia Giardiidae. (12).

En la actualidad, hay seis especies de *Giardia* sp., son aceptados por la mayoría de los investigadores sobre la base de la morfología de los trofozoítos y/o quistes. Este comprende *Giardia agilis* en anfibios, *Giardia ardeae* y *Giardia psittaci* en aves, *Giardia microti* y *Giardia muris* en roedores y *Giardia duodenalis* en mamíferos. Otra especie, *Giardia Varani*, ha sido descrita en el reptil *Varanus salvator*. Este parásito carece de cuerpos medios y posee quistes binucleadas pero su identidad no ha sido confirmada genéticamente (13).

La *G. intestinalis* (conocida también como *G. duodenalis* o *G. lamblia*), es la única especie capaz de infectar a los humanos, a una variedad de mamíferos, es la especie con mayor importancia, a tal punto que la OMS desde los años veinte ha reconocido el potencial zoonótico (14).

Mediante una serie de estudios de isoenzimas, reacción de cadena polimerasa con análisis de polimorfismo, tipificación de cromosomas y secuencia de genes, se ha demostrado que la *G. intestinalis*, es un complejo de especies que comprende al menos al menos siete genotipos (15).

En los últimos 19 años, la investigaciones muestran una distribución mayor en el continente Americano de los genotipos A, B, C y D de *G. intestinalis*. Siendo los genotipos A y B, los que infectan humanos y un amplio rango de hospedadores (perros), se han considerado como los genotipos potencialmente zoonótico (16).

2.2.3 Características

Giardia es un protozoo no invasivo, microaerofílico. Reside y se multiplica por división binaria en la superficie de las primeras porciones del intestino delgado, a un pH ligeramente alcalino que favorece su desarrollo. Cabe mencionar que existe evidencia genética y epidemiológica sobre su capacidad de recombinación sexual. Presenta dos formas: trofozoíto y quiste (17).

Los trofozoítos son formas vegetativas que miden 10-12 μm de longitud, son piriformes, con superficie dorsal convexa y ventral cóncava. Sus movimientos en espiral dan la impresión de "una hoja de árbol que cae". Las estructuras internas que pueden apreciarse son: dos núcleos con endosoma, cuerpos medianos en número variable y un disco adhesivo, ventral, con estructura cóncava, rígida, en espiral, de 9 μm de diámetro, compuesto por microtúbulos y proteínas asociadas ubicado en la mitad anterior ventral, con capacidad contráctil, y un paquete de axonemas con cuerpos basales en posición anterior con respecto a los núcleos, del cual derivan 4 pares de flagelos (par anterior, dos pares laterales y par posterior) con el típico arreglo de microtúbulos 9+2. Estos protozoarios carecen de mitocondrias y peroxisomas, y presentan mitosomas minúsculos <2 μm de tamaño y nucléolos (ANEXO 1). El retículo endoplásmico rugoso y el aparato de Golgi son aparentes durante la secreción de componentes requerida para el enquistamiento (18).

Los quistes de *Giardia* spp son formas de resistencia, infectantes, ovaes, miden entre 6 a 7 μm de longitud, con una densidad de 1,05-1,01 aproximadamente y contienen cuatro núcleos y estructuras residuales de la forma vegetativa (axonemas, restos de disco adhesivo y cuerpos medianos) (ANEXO 1). La resistente pared quística está formada por una capa filamentosa externa y una capa membranosa interna. Su grosor es de 0.3-0.5 μm . El principal carbohidrato del componente glicoprotéico externo es N-acetilgalactosamina (GalNAc) (19).

Los quistes son eliminados con las heces del hospedero y transmitidos a otro hospedero, directamente, o a través de vehículos como agua y alimentos. Se estima que 10-100 quistes son suficientes como dosis infectante. Después de la ingestión, la exposición al ácido gástrico induce la activación del quiste en reposo. En respuesta al pH alcalino, las proteasas del intestino y señalizaciones propias del parásito, emerge una célula que se divide dos veces sin replicación del DNA, produciendo eventualmente cuatro trofozoitos (20).

2.2.4 Ciclo de vida

El ciclo de vida es directo, existen dos formas de presentación de *Giardia*: trofozoito que es la forma vegetativa y quística que es la forma infecciosa. Una vez ingeridos los quistes por vía oral, pasan por el estómago, llegan al segmento duodeno-yeyuno y se produce el desenquistamiento al exponerse a los ácidos gástricos, enzimas pancreáticas (proteasas pancreáticas) y componentes biliares (el ácido carbónico). Los dos trofozoítos se separan, maduran y se fijan a través del disco suctorio a la base de las microvellosidades y se alimentan captando nutrientes de la luz intestinal mediante vesículas picnóticas (ANEXO 2). La distribución de los trofozoítos dentro del intestino varía según el huésped y la dieta. Los trofozoítos adheridos al borde de la mucosa intestinal, se trasladan de un sitio de fijación a otro utilizando los flagelos (21).

En las criptas de las microvellosidades se multiplican por fisión simetrogónica, dando lugar a dos trofozoítos hijos cada 6-8 horas. Los quistes se forman a medida que las heces se van deshidratando a lo largo del tránsito por el intestino grueso y son eliminados adheridos a las mismas; sin embargo se desconoce con exactitud el sitio y el mecanismo (22).

Los trofozoítos se eliminan a través de las heces diarreicas, los ácidos grasos en un pH ligeramente alcalino estimulan el enquistamiento de los trofozoítos que se expulsan de manera más rutinaria. En tanto que los quistes pueden sobrevivir durante días a semanas en condiciones frías y húmedas, los trofozoítos no viven mucho tiempo fuera del huésped. La diarrea puede empezar a los cinco días después del contacto con la infección los quistes empiezan a aparecer en las heces al cabo de una o dos semanas. El ciclo completo presenta una duración de 4-5 días. El periodo pre-patente es de 5-16 días (promedio 10 días) (23).

2.2.5 Patogenia

Mediante un mecanismo traumático-irritativo sobre las células intestinales, ocasionando acortamiento de las microvellosidades intestinales y destrucción del borde del cepillo de

las células. Alterando la digestión y causando un cuadro de mala absorción, siendo los ácidos grasos los más comprometidos, azúcares, vitaminas y proteínas. Debiéndose a una baja actividades en las disacarasa (24).

Por acción secuestrante sobre los principales elementos nutricionales, tomando para su propio metabolismo de proteínas, carbohidratos y grasas, interfiriendo en el metabolismo del hospedador (24).

Por ende en el mecanismo de transporte activo, aumento del recambio de enterocitos, infiltración por células plasmáticas y linfocitos, atrofiando las vellosidades y produciendo enterotoxinas (24).

En la respuesta inmunitaria participan tanto la inmunoglobulina A como los linfocitos T como afectan con mayor frecuencia a animales jóvenes, es probable que se desarrolle cierto grado de inmunidad que los proteja más del desarrollo de signos clínicos, que de la infección (25).

El parásito *Giardia* para poder sobrevivir dentro del hospedador y evadir respuestas inmune, manifiesta variaciones antigénicas. Los trofozoitos, se encuentran recubiertos de una proteína que forma una interfaz entre el parásito y el medio, y que pertenece a una familia de proteínas variables de superficie (Variant specific protein, VSPs). Conteniendo 150-200 genes que codifican esta proteína. Las variaciones antigénicas de *G. lamblia* fueron estudiadas en trofozoitos, mostrando una variación y evitando su detección por los anticuerpos monoclonales (26).

2.2.5.1 Factores que influyen en la patogenicidad

2.2.5.1.1 Dependientes del parásito

Influye el tipo de cepa, por la patogenicidad inherente de cada una de ellas. La cantidad de quistes ingeridos, con mayor posibilidad de desarrollo cuanto mayor sea el número, teniendo en cuenta que un solo quiste puede desarrollar el cuadro patológico. La forma

de presentación del parásito es quiste o trofozoito. La forma quística siendo la forma resistente al medio ambiente y la de trofozoito es la forma mediante la cual se replica por fisión binaria dentro del organismo animal (24).

2.2.5.1.2 Dependientes del hospedador

La edad constituye el factor más importante, para los animales entre uno a ocho meses de edad, los más receptivos a la infección por *Giardia*, independientemente de la raza y el sexo. El estado sanitario y nutricional en general previene en cierta medida la aparición del proceso. De igual manera, el sistema inmunológico (24).

2.2.5.1.3 Dependientes del ambiente

La humedad, temperatura del medio, la higiene de los locales y el manejo de los animales son factores que influyen en la presentación de la enfermedad. Por la poca especificidad de hospedero para *Giardia sp.*, la presencia de otros hospedadores como roedores, otros mamíferos domésticos y silvestres, pueden contaminar el medio y desencadenar el proceso posteriormente en los carnívoros (27).

Los quistes de *Giardia* son muy poco resistentes a la desecación; por lo contrario, con buenas condiciones ambientales de temperatura y humedad, pueden sobrevivir más de dos meses. A 8°C resiste 77 días, a 21°C de 5-24 días y a 37°C en agua destilada 4 días (27).

2.2.6 Síntomas de la Giardiosis

La enfermedad puede progresar de forma aguda, subaguda o crónica. Aunque por lo general, la giardiosis suele ser auto-limitante, pero en ciertas ocasiones la carga parasitaria puede durar semanas o meses si es que no se ha instaurado un tratamiento adecuado. Asimismo, las formas agudas pueden progresar, a un estado crónico (28).

En la mayoría de los casos, la infección es subclínica, pero en el caso de animales inmunocomprometidos, cachorros y gatitos coinfectados con otros patógenos digestivos (virus o bacterias), *Giardia* puede causar diarreas mucosas intermitentes o bien diarreas persistentes con esteatorrea, anorexia, vómitos, pérdida de apetito y apatía (29).

Los síntomas gastrointestinales son los más frecuentes y comprende por lo general las siguientes manifestaciones: enteritis aguda (auto-limitada), diarrea crónica, mala absorción con esteatorrea y disminución de peso (28). La sintomatología extra-intestinal que con mayor frecuencia se han asociado a la giardiosis son: erupción maculo-papular, urticaria, aftas, poliartritis, colangitis, asma bronquial, iridociclitis, retinitis, etc. En la fase de giardiosis crónica los síntomas preponderantes es el malestar abdominal (29).

2.2.7 Diagnóstico

El diagnóstico clínico de giardiosis es difícil, esto se debe a que los signos no son específicos y se parecen a los de otras dolencias gastrointestinales.

La microscopia óptica sigue siendo el medio más práctico para el diagnóstico de *Giardia* en un entorno clínico, mediante técnicas de concentración, como la flotación con sulfato de zinc para concentrar los quistes. Dado que la excreción quistes son intermitentes deben ser evaluados durante 4-5 días seguidas las heces (30).

El Instituto Nacional de Salud utiliza como prueba de diagnóstico en Giardiosis, el método de sulfato de zinc para detectar quistes y trofozoitos en heces o en muestras duodenales (31). Por otro lado, la Organización Panamericana de la Salud, recomienda como método de diagnóstico el análisis de alimentos, agua y heces contaminadas con *Giardia* mediante el uso del método de flotación con sulfato de zinc para la detección de quistes (32).

El estudio más seguro para el diagnóstico de giardiosis es el hallazgo de quistes o trofozoitos en la materia fecal, ya que los signos clínicos y los resultados de las pruebas de laboratorio (hemograma, bioquímica sérica, radiología) no resultan patognomónicos.

Se encuentran métodos de inmuno diagnóstico que son suficientemente sensibles y específicos (29).

Los quistes excretados con las heces pueden observarse directamente en la materia fecal en fresco o tras un proceso de concentración por sedimentación. Debido a la excreción discontinua es recomendable recoger las heces durante 3-5 días para aumentar la probabilidad de detección de los mismos. El descubrimiento de antígeno de *Giardia* en muestras de heces es posible a través de la utilización de pruebas de inmunodiagnóstico rápido que se comercializan actualmente, si bien los resultados obtenidos no son comparables debido a la gran variabilidad antigénica entre individuos. La técnica de inmunofluorescencia directa es muy sensible (29).

2.2.8 Prevención

Giardia se considera el parásito intestinal más frecuente en perros y gatos. La prevalencia global es de aproximadamente 8% en perros (33)

Para prevenir la infección es conveniente lavar a los animales para eliminar los restos fecales de quistes, utilizar utensilios limpios para el pienso y el agua, limpiar el ambiente y retirar y destruir la materia fecal. Aunque no hay desinfectantes registrados para eliminar los quistes de las superficies, ciertos estudios indican que éstos pueden eliminarse con compuestos de amonio cuaternario. Una buena higiene del animal es imprescindible para evitar la diseminación de los quistes. Se debería realizar una prueba *in situ* de la presencia de quistes antes de que los cachorros o gatitos llegaran a un hogar si en él ya existen otros animales. Los animales con diarrea y los animales clínicamente sanos siempre deben ponerse en cuarentena y estar bien diagnosticados, sobre todo aquellos que provienen de criaderos o albergues (34).

Otra manera de controlar la giardiosis en los animales es tratando los animales que presentan la enfermedad, así mismo es importante realizar un programa de vacunación para los perros que están en riesgo de contraer enfermedad como ocurre en otros países de la región (35).

En perros la vacuna contiene al protozooario *Giardia lamblia* inactivada pudiendo reducir la enfermedad clínica y la eliminación de quistes; se usa con más frecuencia en poblaciones de alto riesgo y en cachorros (36, 37).

2.2.9 Métodos de diagnóstico

Para realizar un correcto diagnóstico, la técnica fecal es la de mayor utilidad, si bien es necesario obtener muestras fecales recientes, debido a que los quistes se excretan de forma intermitente.

2.2.9.1 Flotación en sulfato de zinc o Faust

Este método trabajo con el sulfato de zinc al 33, 3%. Cabe destacar que esta solución muestra una densidad de 1,2 baume (concentración de disoluciones acuosas mucho más densas que el agua), algo más elevada que la solución salina, con lo cual incrementa las posibilidades de diagnosticar la presencia de *Giardia* sp, si el parasito está presente a nivel intestinal (38).

El principio del método de faust consiste en usar líquidos de más alta densidad que los elementos buscados. Elementos menos densos flotarán a la superficie, teniendo como ventaja recobrar muestras libres de detritus, lo cual facilita y acelera el tiempo de examinar la lámina (38).

Debido a la excreción intermitente de los quiste, el 93% de los casos se identifican en forma positiva con la recolección de 2 muestra. Las muestras deben examinarse luego de 10 minutos aproximadamente de haber sido procesadas (38).

2.2.9.2 Elisa fecal (test rápido para *Giardia*)

La funcionalidad del test, se basa en detectar antígenos monoclonales específicos de *Giardia* sp. Detectando trofozoitos como quistes. Se utiliza micro esferas rojas de polietileno a las que se han conjugado covalentemente el anticuerpo monoclonal anti-*Giardia lamblia*. Utilizando también micro esferas azules como control del test (39).

El parásito presente en las muestras de heces; reacciona con las partículas de látex que están recubiertas con anticuerpos monoclonales específicos frente al antígeno. Migrando las partículas del antígeno por un canal cromatográfico por la zona de reacción. En esta zona se encuentran anticuerpos anti-*Giardia lamblia* que reacciona con los anticuerpos del parásito (40).

El test utilizado en su mayoría son de tipo Elisa directo, ya que detectan antígenos en la muestra, mediante una placa de microtitulación con anticuerpos primarios. Dando una reacción antígeno-anticuerpo (40).

Siendo pruebas inmunoenzimáticas de rápida detección en heces de caninos y felinos. La presencia del antígeno en muestras fecales indica que el animal ingirió quistes, y a su vez pudo tener una infección activa, eliminando quistes en las heces, los cuales se mantienen viables durante largo tiempo (41).

2.2.9.3 Inmunofluorescencia

Esta técnica utiliza anticuerpos monoclonales con marcación fluorescente para el descubrimiento de quistes fecales de *Giardia*. Es más sensible que el sulfato de zinc para detectar deposiciones con *Giardias*, sobre todo cuando la concentración de quistes es baja. Este examen necesita instrumental especial y las muestras pueden enviarse en formol al 10% (41).

2.2.9.4 PCR (Reacción en Cadena de Polimerasa)

Otro método utilizado para diagnosticar giardiosis es el método PCR (reacción en cadena de polimerasa), donde se utilizan técnicas de biología molecular. La aplicación de la PCR en el diagnóstico de giardiosis a partir de muestras de heces ha sido valorada por varios especialistas usando diversos iniciadores que amplifican secuencias específicas (gen *giardina*, gen HSP, de la SS-rRNA o de la región intergénica del gen rRNA de *G. lamblia*) y diferentes condiciones de amplificación (PCR anidada, múltiple, etc) (41).

2.2.9.5 Aspirados duodenales

Este análisis mediante el aspirado duodenal recolectado mediante gastro-duodenoscopia, para trofozoitos es más eficaz que el sulfato de zinc en una sola muestra fecal de perros con giardiosis clínica, no así en Giardiosis asintomática (41).

Este método diagnóstico es preferible usarse sólo si se hará el aspirado por otra razón médica, de no ser así; el diagnóstico de giardiosis por sí solo no justifica el costo ni la complejidad del examen (41).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Espacio y tiempo

Las muestras fueron obtenidas en las instalaciones de la veterinaria “Oasis” ubicada en el sector 9, Manzana E, lote 15 en el distrito de Villa el Salvador. Las muestras de heces diarreicas eran recolectadas y evaluadas con el test rápido para *Giardia* e inmediatamente eran movilizados para realizar el análisis mediante el método de flotación usando sulfato de zinc al 33,3% a un laboratorio privado ubicado en el mismo distrito. Asimismo, el tiempo utilizado para recolectar las muestras fue de cuatro meses desde el mes de febrero hasta mayo del 2017.

3.2 Población y muestra

Para el estudio se recolecto 40 muestras de heces diarreicas procedentes de pacientes con cuadros compatibles a giardiosis. Para hallar el tamaño de muestra se utilizó el teorema de límite central por ser una investigación que sigue una distribución normal, contar con variables independientes y tener inferencia estadística. Así mismo es aplicable en poblaciones grande y pequeñas, por lo regular tomándose a $n=30$

3.3 Diseño de la investigación

El estudio de la investigación fue no experimental descriptivo y de corte transversal, ya que se recolectaron datos en un momento y tiempo único, con el objetivo de analizar sus variables e interrelación entre estas.

Las muestras fueron recolectadas previo consentimiento del propietario de la mascota, mediante una carta de autorización que cada dueño firmaba, para proceder a recolectar las heces de sus mascotas con sospechas a giardiosis que acudían a la veterinaria “Oasis”, luego se procedió a recolectar en un frasco estéril de polietileno, inmediatamente recolectadas se examinaba mediante el test rápido par *Giardia* y posteriormente se

trasladaba a un laboratorio privado para realizar el método de flotación con sulfato de zinc 33,3%.

3.4. Procedimiento

a. Selección de los animales

Se trabajó solo con caninos cachorros (desde 0 días de nacido hasta 12 meses de edad), se tomó en cuenta que presenten cuadros de diarreas mucosas intermitentes o bien diarreas persistentes esteatorreicas, vómitos y dolor abdominal, no tomándose en cuenta: el tamaño, la raza, peso y sexo de cada cachorro.

b. Recolección de muestras

Los pacientes caninos cachorros con signología compatible a giardiosis, que eran llevados a la veterinaria durante el día, se procedía a darle al propietario de la mascota una ficha de autorización para la colecta de heces, esperándose que puedan defecar para poder recolectar un volumen de 5-10ml de heces diarreicas (ANEXO 3).

Una vez que se obtenían las muestras, se rotulaban los datos del paciente en los envases de plásticos estériles con tapa rosca.

c. Análisis de muestras

Finalizada la recolección de cada muestra eran llevadas inmediatamente para poder procesarlas sin utilizar ningún preservante y/o fijador en las muestras de heces, para evitar la alteración anatómica de los quistes y/o trofozoitos de *Giardia* sp, se procesaban las muestras frescas que eran reunidas durante el día.

c.1 Método de flotación con sulfato de zinc al 33,3%

Se colocaba 2 gramos aproximadamente de heces diarreicas frescas en un mortero junto a 15ml de sulfato de zinc al 33,3%; se procedía a formar una pasta uniforme dentro del mortero, luego se pasaba la mezcla uniforme por un colador limpio. Llenando el tubo de ensayo con el líquido filtrado (libre de burbujas) hasta el borde y se dejaba un menisco convexo, colocando un cubreobjetos sobre el tubo de ensayo, esperando alrededor de 10 minutos; se procedía a retirar cuidadosamente el cubreobjetos y se colocaba sobre una lámina portaobjetos con una gota de lugol y finalmente se llevaba al microscopio observando a 10x y 40x (ANEXO 4).

c.2 Método moderno con test rápido vetScan para *Giardia*

Se tomó de la muestra una fina capa de heces diarreicas hasta saturar el hisopo estéril, regresando el hisopo a la cámara de dilución. Una vez puesto el hisopo a la cámara de dilución se rompía el sello del buffer de extracción localizada en el extremo superior del dispositivo, doblando el bulbo hacia atrás y hacia adelante hasta que la varilla azul que tiene contenida el buffer se rompa y pueda mezclarse con las heces diarreicas en el extremo inferior del dispositivo (ANEXO 5).

Una vez mezclada las heces con el buffer se procedía a colocar en el pocillo redondo 3 gotas (\approx 150 microlitros) del casete de plástico. Los resultados eran develados en 5-10 minutos(ANEXO 6) (42).

3.5 Diseño estadístico

Para analizar los resultados se utilizó, la tabla de contingencia de 2x2 para expresar los resultados, la prueba de Mc Nemar indico el grado de asociación entre las variables y mediante el coeficiente kappa de cohen se pudo conocer el grado de concordancia (ANEXO 7).

IV. RESULTADOS

De las 40 muestras de heces se obtuvo un porcentaje de animales positivos con el método de flotación con sulfato de zinc al 33,3% de 87,5% (35/40) y para el test rápido para *Giardia* un 85% (34/40).

Tabla 1. Porcentaje de positividad para el método de flotación con sulfato de zinc al 33,3% y el test rápido para *Giardia* de 40 muestras de heces de caninos en una clínica veterinaria en Villa el Salvador.

Método	Positivas	Negativas	%
Flotación con sulfato de zinc al 33, 3%	35	5	87,5
Test rápido para <i>Giardia</i>	34	6	85

Ambos métodos en confrontación detectaron 33 verdaderos positivos, un solo falso positivo, dos falsos negativos y por ultimo cuatro verdaderos negativos de un total de 40 muestras examinadas.

Tabla 2. Relación del método de flotación con sulfato de zinc al 33, 3% y el test rápido para *Giardia*.de 40 muestras de heces obtenidos de caninos en una clínica veterinaria en Villa el Salvador.

		Sulfato de zinc al 33,3%		Total
		Positivo	Negativo	
Test rápido para <i>Giardia</i>	Positivo	33	1	34
	Negativo	2	4	6
Total		35	5	40

En la Tabla 3 se observa que la sensibilidad del método de flotación con sulfato de zinc y el test rápido para *Giardia* que dio como resultado 97% y 94% respectivamente y especificidad 80% y 66,6%.

Tabla 3. Sensibilidad y especificidad para el método de flotación con sulfato de zinc al 33,3% y el test rápido para *Giardia*.

Método	Sensibilidad	Especificidad
Flotación con sulfato de zinc al 33, 3%	97%	80%
Test de antígeno para <i>Giardia</i>	94%	66,6%

Prueba de Mc Nemar entre ambos métodos de flotación con sulfato de zinc al 33,3% y test rápido para *Giardia*

Mediante la prueba de Mc Nemar se encontró que no existen diferencias significativas entre ambos métodos de diagnóstico. Siendo reemplazables entre sí (43).

$$\chi^2 = \frac{[(1 - 2) - 1]^2}{1 + 2} = 1,3$$

$$\chi^2_{c(\alpha=0,05)} = 3,8419$$

Coefficiente Kappa de Cohen

En la relación de ambas pruebas se obtuvo como resultado una concordancia buena entre el método de flotación con sulfato de zinc al 33,3% y con el test rápido para *Giardia*.

$$\kappa = \frac{0,1625}{0,2375} = 0,684$$

V. DISCUSIÓN

En la investigación se obtuvo un porcentaje de caninos positivos a giardiosis con el test rápido para *Giardia* de un 85%, tomándose en cuenta que para recolectar las muestras de heces se utilizaron caninos con signología compatible a la enfermedad a comparación de otra investigación realizada en Ecuador por Ochoa Castillo, donde también utilizaron un método de Elisa directo y arrojó como resultado 22,45% de caninos positivos a giardiosis pero no se consideró los signos clínicos como las heces diarreicas, solo se tomó en cuenta otros factores como: el sexo, raza, estado fisiológico y estrato socio-económico (3). Debiéndose tomar en cuenta que la relación entre la detección de *Giardia* y las heces diarreicas a pastosas son estadísticamente muy significativas según Araujo (9).

Según la Tabla 2, donde se confrontó el método flotación con sulfato de zinc al 33,3% (Gold estándar) y el Test para *Giardia*; se obtuvo de las 40 muestras, un falso positivo, dando el método de flotación un diagnóstico negativo a una muestra con giardiosis corroboradas con el test rápido. Esto pudo estar relacionado por la forma intermitente de liberación de quistes y trofozoitos en algunas porciones de heces diarreicas (30), y con la viabilidad respecto al manejo de la temperatura óptima que evita alteraciones en la estructura del parásito y por lo tanto al no haber un buen mantenimiento de la temperatura, no se podrá reconocer las estructuras en el microscopio (27).

En la Tabla 2, también se observa dos falsos negativos; observándose dos muestras negativas para el test rápido para *Giardia* pero positivas para el método de flotación. Según Nash, el parásito *G. lamblia* tiene variaciones antigénicas, lo que dificulta con el método de Elisa su diagnóstico, al ponerse en contacto con el anticuerpo monoclonal del

test no reconoce el antígeno por su variación, evitando que se forme la reacción antígeno- anticuerpo, y por ende arroja un diagnóstico negativo (26).

Así mismo, Rishniwios ha demostrado que el método de flotación con sulfato de zinc al 33,3%, es una prueba con sensibilidad baja determinando un 49% pero en la investigación se evidencio una alta sensibilidad de 97%, resaltando que los pacientes estuvieron con los signos clínicos compatibles a la enfermedad, incrementando la posibilidad de encontrar al parasito en el examen de flotación (2). Y el resultado del test rápido para *Giardia* obtuvo una sensibilidad de 94% que coinciden con los valores dados por el laboratorio Abaxis (4). Por lo tanto, en la investigación la prueba con sulfato de zinc al 33, 3% queda en ventaja por su bajo costo, pero en desventaja por el tiempo en dar un diagnóstico, mayor uso de equipos de laboratorio, personal con experiencia y exposición del parasito. Por lo tanto el uso del método de diagnóstico será elegido previa determinación de un médico veterinario.

Los resultados obtenidos por la prueba Mc Nemar demostraron que no hay diferencias significativas entre ambos métodos, por lo tanto, si podrían ser reemplazables. Pero por los resultados obtenidos el método más adecuado puede ser según criterio del profesional veterinario debido a que ambos son muy sensibles. Además, varían en la especificidad; el método de flotación con sulfato de zinc al 33, 3% y el test rápido para *Giardia* posee una especificidad de 80% y 66,6% respectivamente.

En la investigación se utilizó el coeficiente kappa de cohen para medir la concordancia entre ambos métodos. Según Tarabla, un valor $k=0,81-1$ representa una concordancia muy buena, menor o igual a 0,2 una concordancia pobre, el intervalo de 0,41-0,6 moderada y el valor obtenido en la investigación fue de 0,68 indicando una concordancia buena entre el método de flotación con sulfato de zinc al 33, 3% y el test rápido para *Giardia* (44).

Teniendo en cuenta el costo-beneficio de cada técnica, el método de flotación de sulfato de zinc y el test rápido para *Giardia* tiene un valor de $S/17,16$ y $s/46$ respectivamente (ANEXO 8). Entre las ventajas del test esta: el menor tiempo de diagnóstico (5 minutos),

fácil uso, ausencia de equipos de laboratorio o personal capacitado; a diferencia del método de flotación que es menos costoso, pero se necesita de personal capacitado, equipos de laboratorio, personal calificado y experiencia para su diagnóstico.

En el método de flotación con sulfato de zinc al 33, 3%, se pudo observar 34 muestras con quistes de *Giardia* y solo en una muestra se detectó un trofozoito de este parasito (ANEXO 9). Esto se debe a la variabilidad de densidad en los quistes que es de 1,05-1,01 a diferencia de los trofozoitos que en su mayoría son mayor a 1,2 (19), ya que el sulfato de zinc por la diferencia de densidad solo detectara quistes y trofozoitos menores a 1,2 g/ml de densidad (38).

VI. CONCLUSIONES

-Se tuvo un porcentaje de positividad de 87,5% y 85% con el método de flotación con sulfato de zinc al 33,3% y el test rápido para *Giardia* respectivamente.

-Se obtuvo una sensibilidad de 97% y 94% para el método de flotación con sulfato de zinc al 33,3% y el test rápido para *Giardia* respectivamente.

-La especificidad de 80% con el método de flotación con sulfato de zinc al 33, 3% y 66,6% para el test rápido para *Giardia*.

-Mediante la prueba de Mc Nemar ambos métodos son reemplazables entre sí.

-Existe una buena concordancia con el coeficiente kappa de cohen.

VII. RECOMENDACIONES

-El método de flotación con sulfato de zinc puede ser usado en lugares donde los propietarios no tengan solvencia económica, ya que tiene como ventaja: ser de bajo costo.

-El test rápido para *Giardia*, deberá probarse en un mayor número de muestras en pacientes asintomáticos.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Blinda JA, Moreira RA, Álvarez JD. Comparación de la eficiencia de dos técnicas de diagnóstica de giardiosis canina. Rev.Vet. 2003; 14(2):87-88.
2. M. Rishniw, J Liotta, M. Bellosa, D. Bowman, KW Simpson. Comparación de 4 pruebas diagnósticas de *Giardia* en el diagnóstico de la giardiasis subclínica crónica canina adquirida naturalmente. Journal of veterinary internal medicine. Nueva York-EE.UU. 2010.
3. Ochoa Castillo, RC. Estudio de la prevalencia de *Giardia* sp en caninos atendidos en las clínicas veterinarias de la ciudad de Loja.UNL. Ecuador. 2011.
4. Vetscan canine *Giardia* rapid test. EE.UU; 2015 [citado 02 de abril del 2018]. Disponible en:
http://vet.abaxis.com/rs/705OZG628/images/8874200_rev._g_giardia_rapid_test_sell_sheet_nocrop.pdf
5. Miro Corrales, G. Importancia y manejo clínico de la giardiosis en la clínica de pequeños animales. Rev Argos. 2010; (117):46-47.
6. Daniel Zárate R, Amanda Chávez V, Eva Casas A, Néstor Falcón P. Prevalencia de *Giardia* sp. En canes de los distritos del cono sur de Lima Metropolitana. Rev Inv Vet Perú. 2003; 14(2): 134-139.
7. López J, Abarca K, Paredes P, Inzunza E. Intestinal Parasites in dogs and cats with gastrointestinal symptoms in Santiago, Chile. Rev Med Chil. 2006; 134 (2): 193-200.

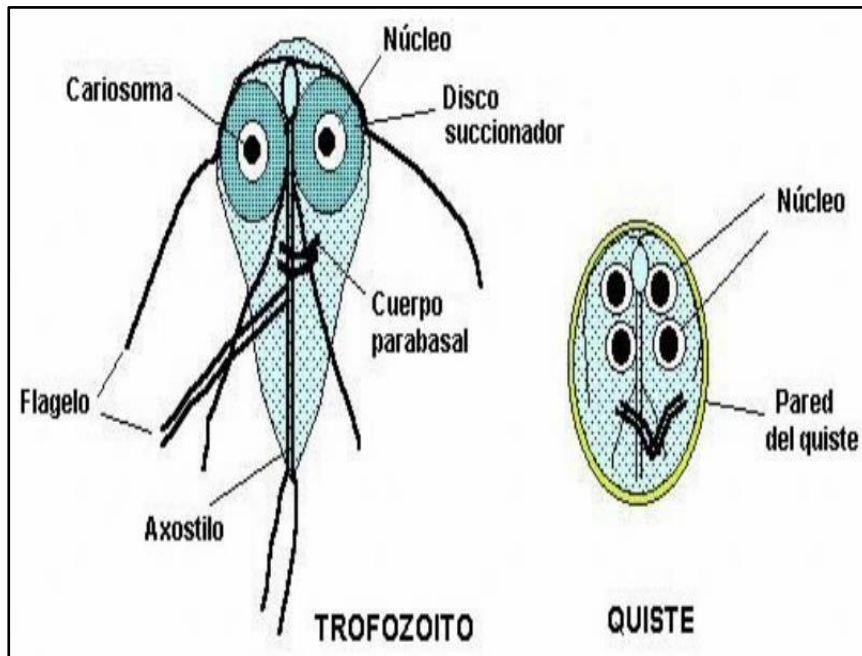
8. Ithon N, Muraoka N, Aoki M. Prevalence of *Giardia Lamblia* in household dogs. *Pub Med*. 2001; 75(8):617-7.
9. Araujo Torres, William Andrés. Prevalencia de *Giardia sp.* en *canis familiaris* de la provincia constitucional del Callao. *Rev Inv Vet Perú*. 2004; 15(2): 145-150.
10. Levine ND, Corlis JO Cox. Una nueva clasificación revisada de los protozoos. *Pub Med*. 1980; 27(1):37-58.
11. Monis PT, Caccio SM, Thompson RC. Variación en *Giardia*: Una revisión Taxonómica del género. *Pub Med*. 2008; 25(2): 93-100.
12. Martin F. Heyworth. Conjunto genéticos de *Giardia duodenalis* y huéspedes. *PMC*. 2016; 23(13): 1-5.
13. Adam RD. Biology of *Giardia lamblia*. *Clinical Microbiology Reviews*. *Pub Med*. 2001; 14(3): 447-475.
14. WHO expert Committee on Parasitic Zoonoses & World Health Organization. Parasitic zoonoses. Geneva: WHO; 1979. [Fecha de acceso 16 de julio del 2017]. Disponible en: <http://apps.who.int/iris/handle/10665/41353>
15. Meloni BP, Thompson RC, Stranden AM, Kohler P, Eckert J. Critical comparison of *Giardia duodenalis* from Australia and Switzerland using isoenzyme electrophoresis. *Pub Med*. 1991; 50(2): 115-124.
16. Monis PT, Andrews RH, Mayrhofer G, Ey PL. Genetic diversity within the morphological species *Giardia intestinalis* and its relationship to host origin. *Infect Genet Evol*. 2003; 3(1): 29-38.
17. Cordero del Campillo M, Rojo-Vásquez FA. *Parasitología Veterinaria*. 1ra ed. España: Mc Graw Hills; 1999.
18. Barr SC. *Infecciones entéricas protozoaricas*. 1ra ed. México: Mc Graw Hills; 2000.
19. Mehlhorn H, Duwel D, Raether W. *Manual de parasitología Veterinaria*. 1ra ed. Alemania: Ed Grass-Latros; 1993.
20. Heinza E, Lithgow T. Back to basics: A revealing secondary reduction of the mitochondrial protein import pathway in diverse intracellular parasites. *ELSEVIER*. 2013; 1833(2): 295-303.
21. Troeger H, Epple H, Scheneider T, U. Wahnshaffe, et al. Effect of chronic *Giardia lamblia* infection on epithelial transport and barrier function in human duodenum. *PMC*. 2007; 56(3): 328-335.

22. Trinidad Sabaleta Moya. Giardiosis en mascotas y humanos: ¿una zoonosis emergente?. Argos Portal Veterinario. España. 2011. [Fecha de acceso 02 de julio del 2017]. Disponible en: <https://argos.portalveterinaria.com/noticia/6748/articulos-archivo/giardiosis-en-mascotas-y-humanos:-una-zoonosis-emergente.html>
23. Greene EC, Addie DD, Appel GM, et al. Enfermedades infecciosas en perros y gatos. 2da edición. EEUU: Ed McGraw-Hill; 2000.
24. Coles E. Patología y diagnóstico veterinario. 1ra ed. México: Interamericana; 1968.
25. Aiello Susan, et al. El Manual Merck de Veterinaria. 5a ed. España: Barcelona Océano; 2000.
26. Nash, TE. Antigenic variation in *Giardia lamblia* and the host immune response. PMC. 1997; 352(1359): 1369-1375.
27. Stevens DP. Giardiasis: host-pathogen biology. Pub Med. 1982; 4(4): 851-858.
28. Huerta S. Prevalencia de *Giardia lamblia* y *Chilomastix mesnili* en niños de 1-5 años de edad en el municipio de Monteagudo del departamento de Chuquisaca. Trabajo de Investigación. Revista Ecorfan. 2014; 1: 357-372.
29. ESCCAP. Control de Protozoos Intestinales en Perros y Gatos. 1ra ed. España; 2013. [Fecha de acceso 15 agosto del 2017]. Disponible en : https://www.esccap.org/uploads/docs/3sbvfy71_ESCCAP_Guide_6_spanish_version_def.pdf
30. Zajac AM, Johnson J, King SE. Evaluation of the importance of centrifugation as a component of zinc sulfate fecal flotation examinations. Pub Med. 2002; 38(3): 221-224.
31. Manual de Procedimiento de Laboratorios para el Diagnóstico de los Parásitos Intestinales del Hombre. Lima: INS; 2013. [Fecha de acceso 15 de julio del 2016]. Disponible en: http://www.bvs.ins.gob.pe/insprint/salud_publica/nor_tec/37.pdf
32. Organización Panamericana de la Salud. Argentina. 2017. [fecha de visita: 15 de agosto del 2016]. DISPONIBLE EN: <http://publicaciones.ops.org.ar/publicaciones/publicaciones%20virtuales/libroetas/modulo3/modulo3g.html>

33. Vázquez Tsuji O, Campos rivera T. Giardiasis: La Parasitosis más frecuente a nivel mundial. Rev del Centro de Inv. 2009; 8(31): 75-90.
34. Mircean V, Gyorke A, Cozma V. Prevalencia y factores de riesgo de *Giardia duodenalis* en perros de Rumania. ELSEVIER. 2011; 184(2-4): 325-329.
35. Olson ME, Ceri H, Morck DW. Vacuna contra *Giardia*. Pub Med. 2000; 16(5): 213-217.
36. Morgan R, et al. Clínica de pequeños animales: Infecciones protozoarias. 4ta ed. España: Grafos; 2004.
37. Gustavo Contreras. Giardiasis. Uruguay. 2004. [Fecha de acceso 15 de agosto del 2016]. Disponible en: http://www.veterinaria.org/asociaciones/vet-uy/articulos/artic_can/0054/can0054.htm
38. Alcaraz Soriano, María Jesús. Giardia y Giardiosis. España. 2002. [Fecha de acceso 15 de agosto del 2017]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/parasitologia/Giardia.pdf>
39. IDEXX. test SNAP. España. 2017. [Fecha de acceso 15 de agosto del 2017]. Disponible en: <http://www.idexx.es/smallanimal/inhouse/snap/giardia.html>
40. Wolfe MS. Giardiasis: manual clínico microbiológico. 1ra ed. Alemania: 1998.
41. Hills DR. Giardiasis: issues in diagnosis and management. Pub Med. 1993; 7(3): 503-525.
42. Abaxis. Canine *Giardia* rapid test. EEUU. 2015. [Fecha de acceso 20 de junio del 2017]. Disponible en: <https://www.abaxis.com/sites/default/files/resource-brochures/887-4200%20Rev.%20H%20Giardia%20Rapid%20Test%20Sell%20Sheet.pdf>
43. Altman DG. Practical statistics for medical research. 1ra ed. London: Chapman and Hall; 1991.
44. Tarabla H. Epidemiología diagnóstica. Argentina: Editorial Universidad Nacional del Litoral; 2000.

ANEXOS

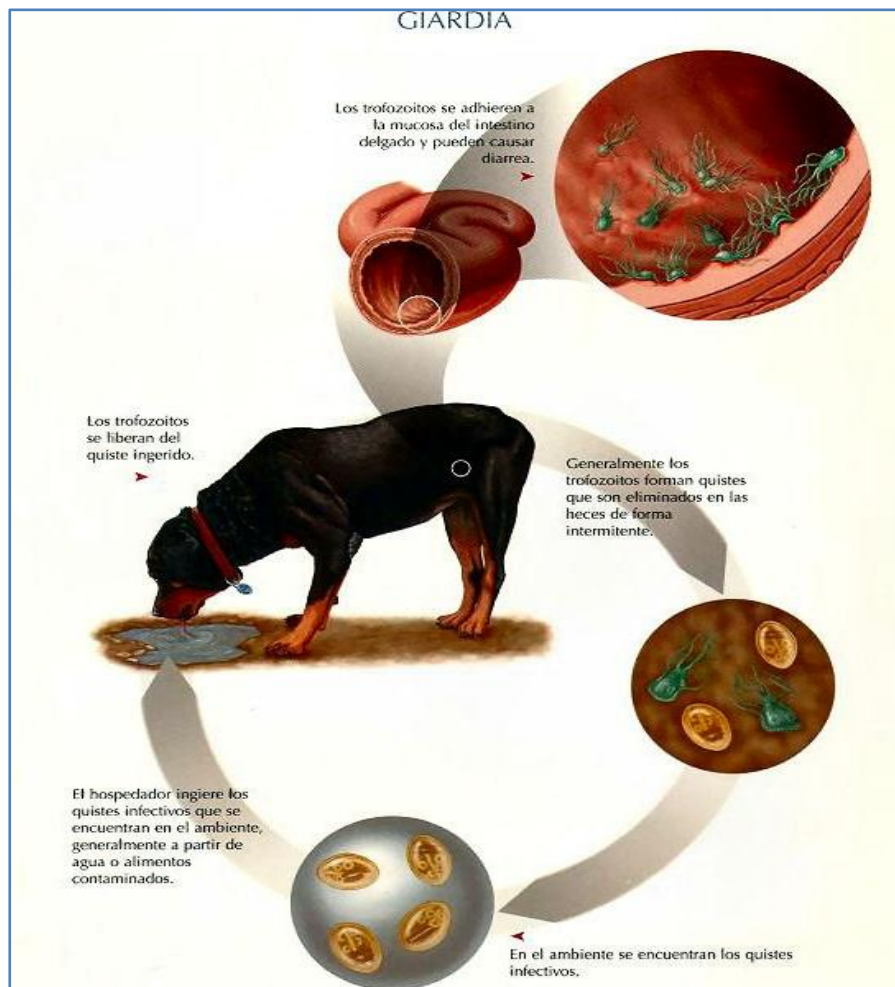
ANEXO 1



Características del parásito *Giardia*

Fuente: ASDM Digital Image Collection del Catillo, 2010

ANEXO 2



Ciclo de vida del parásito *Giardia* sp
 (Fuente: <http://www.vonferrizhaus.2015>)

ANEXO 3

AUTORIZACIÓN DE TOMA DE MUESTRA DE HECES EN CANINO

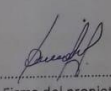
Yo Amalia Nigua Con n° D.N.I. 3186605

Con dirección de domicilio St. 2. 6ta. 21. p. 1ta. 9. L. 5. d.

Y número de teléfono fijo y/o celular 997761705, autorizo que se recolecten las muestras de heces de mi mascota, con el fin de poder ayudar a llevarse a cabo la investigación que lleva por título "EVALUACIÓN DE DOS METODOS PARA EL DIAGNOSTICO DE *Giardia sp.* EN HECES DE CANINOS EN UNA CLINICA VETERINARIA".

Datos de la mascota

Nombre:	<u>Tati</u>
Edad:	<u>3 meses</u>
Sexo:	<u>hembra</u>
Raza:	<u>Sauzev</u>
Fecha aproximada que presenta los síntomas:	
Fecha de recolección de heces:	


.....
Firma del propietario

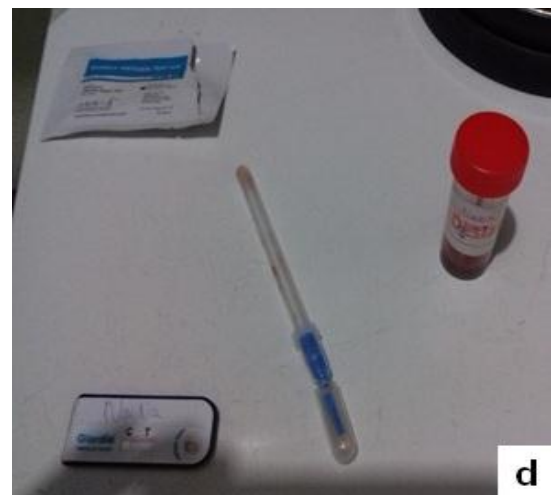
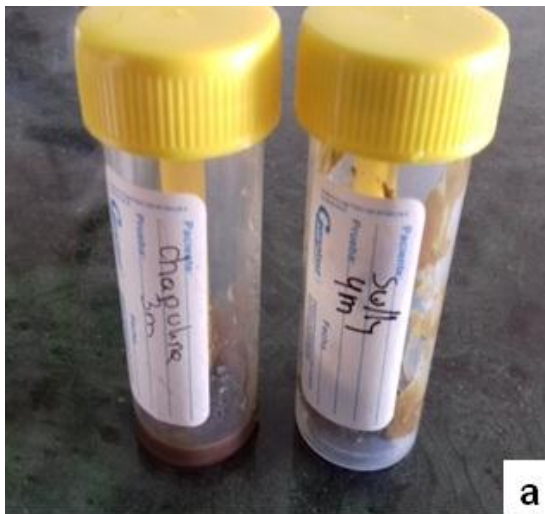
Formato de autorización de recolección de heces
Fuente: Elaboración propia, 2017

ANEXO 4

**a****b****c****d****e****f**

Procedimiento con el método de flotación con sulfato de zinc al 33,3%. **(a)**muestra de heces diarreas **(b)**unificar las heces con 10ml de sulfato de zinc **(c)**muestra colada para separar de partículas grandes **(d)** colocado de un cubreobjeto en la parte superior del tubo y reposo durante 10 minutos **(e)**observación en el microscopio de las muestras. Fuente: Elaboración propia, 2017

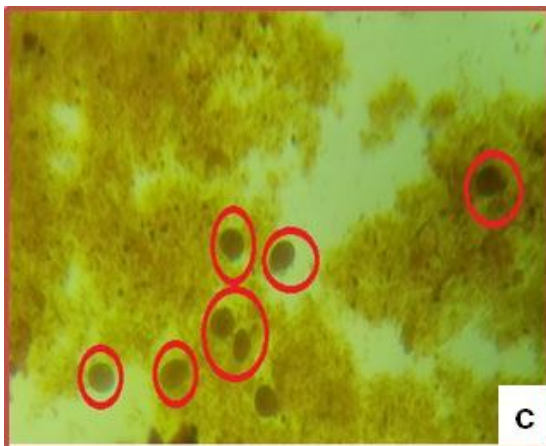
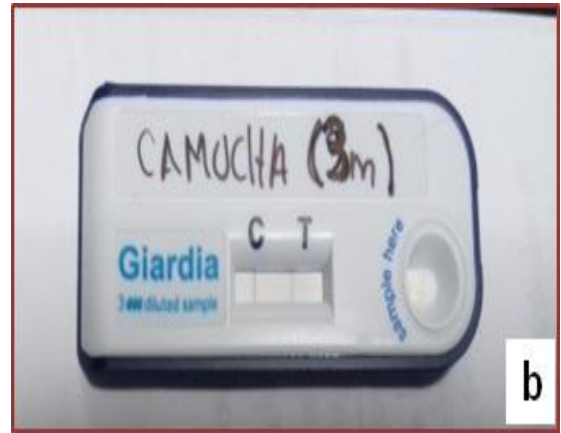
ANEXO 5



Procedimiento de muestras con el test rápido para *Giardia* de laboratorios ABAXIS. **(a)** muestras frescas y rotuladas. **(b)** componentes del test (hisopo con buffer y placa reveladora). **(c)** retirado de una fina capa de heces con el hisopo. **(d)** esperando resultados por 5- 10 minutos.

Fuente: Elaboración propia, 2017

ANEXO 6



Resultados de ambos métodos. **(a y c)** quistes de *Giardia* observados en microscopio a 40x. **(b y d)** test rápido para *Giardia* mostrando ambas áreas (control y prueba) de color rojo, lo que nos indica positivos.

Fuente: Elaboración propia, 2017

ANEXO 7

		Método 1		Total
		Si	No	
Método 2	Si	a	b	a + b
	No	c	d	c + d
Total		a + c	b + d	a + b + c + d

$$EP+ = [(a+b)/n] \times [(a+c)/n]$$

$$OP = [(a+d)/n]$$

$$EP- = [(c+d)/n] \times [(b+d)/n]$$

$$EP = (EP+) + (EP-)$$

$$OA = OP - EP$$

$$MA = 1 - EP$$

$$\text{Kappa de Cohen} = OA/MA$$

$$Mc\ Nemar = \frac{(|b+c| - 1)^2}{b+c}$$

Tabla de convergencia 2x2, fórmula para hallar el coeficiente Kappa y Mc Nemar. (Fuente: <http://www.revistaseden.org/files/11-cap%2011.pdf> . 2011)

ANEXO 8

Método	Materiales	Precio unitario	Total
Método de flotación con sulfato de zinc al 33,3%	Sulfato de zinc al 33,3% (15ml)	S/6	s/17,16
	Guantes descartables par	s/0,5	
	Mascarilla descartable (unidad)	S/0,5	
	Lamina porta objeto(unidad)	s/0.1	
	Lamina cobre objeto (unidad9	s/0,06	
	Equipos y materiales de varios usos	s/10	
Test rápido VetScan de <i>Giardia</i> (Lab. ABAXIS)	Test rápido de <i>Giardia</i> (unidad)	s/45	S/46
	Guantes descartables par	s/0,5	
	Mascarilla descartable (unidad)	s/0,5	

Tabla 1. Comparación de precios entre ambos métodos

Fuente: Elaboración propia, 2017

ANEXO 9

NUMERO DE MUESTRA	METODOS PARA DETECTAR <i>Giardia</i> sp			
	TEST RÁPIDO PARA <i>GIARDIA</i>		FLOTACIÓN CON SULFATO DE ZINC AL 33,3%	
	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO
1	X		X (quistes)	
2	X		X (quistes)	
3	X		X (quistes)	
4	X		X (quistes)	
5	X		X (quistes)	
6	X		X (quistes)	
7	X		X (quistes)	
8	X		X (quistes)	
9	X		X (quistes)	
10	X		X (quistes)	
11	X		X (quistes)	
12		X	X (quistes)	
13		X	X (quistes)	
14	X			X
15	X		X (quistes)	
16	X		X (quistes)	
17	X		X (quistes)	
18	X		X (quistes)	
19	X		X (quistes)	
20	X		X (quistes)	
21	X		X (quistes)	
22	X		X (quistes)	
23	X		X (quistes)	
24	X		X (quistes)	
25	X		X (quistes)	
26	X		X (quistes)	
27	X		X (quistes)	
28	X		X (quistes)	
29	X		X (quiste y trofozoito))	
30	X		X (quistes)	
31	X		X (quistes)	
32	X		X (quistes)	
33	X		X (quistes)	
34	X		X (quistes)	
35	X		X (quistes)	
36	X		X (quistes)	
37		X		X
38		X		X
39		X		X
40		X		X

Tabla 2. Relación de caninos cachorros positivos y negativos para ambos métodos (Fuente: Elaboración propia, 2017).

